

イヌにおける完全脳虚血後の聴性脳幹反応および 脳波の回復に及ぼすプロスタグランジン E₁ 総頸動脈内投与の影響

金沢大学医学部医学科麻酔・蘇生学講座 (主任: 小林 勉教授)

明星 康 裕

雑種成熟イヌの大動脈を15分間遮断して一時的な完全脳虚血状態を作成し、虚血前から後にわたるプロスタグランジン E₁ (prostaglandin E₁, PGE₁) 投与が、循環再開後の脳波および聴性脳幹反応 (auditory brainstem response, ABR) の回復を促進するか否かについて検討した。1%ハロタンと60%笑気の全身麻酔下で開胸し、大動脈遮断の準備を行ったのち、吸入ガスを0.2%ハロタンと酸素のみに変更した。基準時の測定を行った後、20頭のイヌを対照群 (n=10) とPGE₁群 (n=10) の2群に無作為に分け、前者には生理食塩水を10μl/kg/分の速度で、後者にはPGE₁の溶液 (1ng/μl) を同じ速度 (PGE₁として10ng/kg/分) で総頸動脈に1時間注入した。その後、総頸動脈への薬液注入を一時的に中止し、上行動脈および上・下大静脈を同時に遮断して完全脳虚血状態を作成した。15分後に遮断を解除して循環を再開させるとともに、総頸動脈へ薬液注入を再開し、その後2時間継続した。血行遮断から脳波が消失するまでの時間は、対照群で23.2±8.5秒 (平均値±標準偏差)、PGE₁群で23.0±7.9秒であり、群間に有意差を認めなかった。循環再開後から脳波再出現までの時間は、対照群で82.5±36.1分であったのに対し、PGE₁群では41.5±11.2分と有意に短縮した (p<0.05)。また、循環再開後12時間にわたる経過観察中、PGE₁群のABRのI~V波の出現率は、対照群よりも有意に良好であった (p<0.05)。さらに、PGE₁群ではABRのIVおよびV波の振幅が、対照群よりも有意に大きく (p<0.05)、遅発性脳血流減少も予防された。以上より、PGE₁の総頸動脈内投与は、完全脳虚血後の脳機能の回復を促進すると結論された。なお、上記の機序には、PGE₁がATPaseを賦活化し、ナトリウムやカルシウムイオンの細胞内への流入を阻止することが関与していると考えられた。しかし、臨床で本法を応用するには、PGE₁の投与量や投与時期をさらに検討する必要があると考えられた。

Key words complete cerebral ischemia, prostaglandin E₁, electroencepharogram, auditory brainstem response

プロスタグランジン E₁ (prostaglandin E₁, PGE₁) は、強力な血管拡張作用があり、臓器血流を増加させる^{1,2)}ことから、末梢循環改善薬として注目されている³⁾。その他にも、血小板凝集抑制作用⁴⁾、赤血球変形能改善作用⁵⁾、細胞保護作用⁶⁾などが認められている。さらに、本物質は、膜安定化作用を有するとともに、細胞内のアデニルサイクラーゼを活性化して、サイクリックAMPを増加させることにより⁷⁾、細胞のエネルギー代謝や細胞内の電解質バランスを調節することが報告されている⁸⁾。したがって、PGE₁には、急性心停止時などの完全脳虚血に際して、脳細胞を保護する作用があると推察される。

しかし、脳虚血に対するPGE₁の作用について、実験的に調査した報告は現在のところ多くない。今回、著者は15分間の完全脳虚血を加えたイヌに対して、虚血施行前から循環再開後にわたりPGE₁を総頸動脈内に投与し、脳波および聴性脳幹反応におよぼす影響を12時間にわたって検討した。

対象および方法

1. 対象と準備

実験には、体重10~15kgの雑種成熟イヌ20頭を用いた。塩酸ケタミン (三共、東京) 20mg/kgと硫酸アトロピン (田辺、東京) 0.5mg/kgの筋肉内投与により麻酔を導入し、塩化サキシニルコリン (山之内、東京) 2mg/kgの筋肉内投与で筋弛緩を得たうえ、気管内挿管を行った。次いで、人工呼吸器LP6 (IMI、埼玉) に接続し、5cmH₂Oの終末呼気陽圧を付加した間歇的陽圧呼吸を行った。1回換気量を10ml/kgに固定し、動脈血炭酸ガス分圧 (carbon dioxide pressure of arterial blood, PaCO₂) が40mmHgになるように、呼吸数を8~12回/分の間で調節した。手術操作が完了するまで、麻酔は60%笑気、40%酸素、1.0%ハロタンの混合ガスの吸入で維持し、臭化パンクロニウム (日本オルガノン、東京) 1mgを適宜に静脈内投与して動物を非動化した。

平成9年10月21日受付, 平成9年12月18日受理

Abbreviations: ABR, auditory brainstem response; BE, base excess; BT, blood temperature; CO, cardiac output; CVP, central venous pressure; HR, heart rate; MAP, mean arterial pressure; MPAP, mean pulmonary arterial pressure; PaCO₂, carbon dioxide pressure of arterial blood; PaO₂, oxygen pressure of arterial blood; PCWP,

なお、全ての手術操作にあたっては、1%メピバカイン (藤沢、東京) による局所浸潤麻酔を併用した。

被検動物を仰臥位にし、10%ポピオンヨード溶液で消毒し、準清潔操作にて以下の処置を行った。すなわち、一侧の大腿動脈よりカテーテルを挿入・留置し、持続的な平均動脈圧 (mean arterial pressure, MAP) の圧測定と採血路に使用した。また、大腿静脈より熱希釈式肺動脈Swan-Ganzカテーテル (American Edward Laboratories, Irvine, U.S.A.) を挿入・留置し、平均肺動脈圧 (mean pulmonary arterial pressure, MPAP)、肺毛細血管楔入圧 (pulmonary capillary wedge pressure, PCWP)、中心静脈圧 (central venous pressure, CVP)、心拍出量 (cardiac output, CO)、および血液温 (blood temperature, BT) の測定に当てるとともに、乳酸リンゲル液 (大塚、東京) 10ml/kg/時間の輸液ルートに使用した。

実験中は、体温計プローブ43TA (Yellow Springs Instrument, Ohio, USA) を食道に挿入し、先端を心臓裏面の高さに固定し、その部分の温度を38.5~39.5℃に維持した。なお、この食道温維持に際しては、必要に応じ、遠赤外線新生児加温器および電気毛布を使用した。

以上の準備の後、イヌを左側臥位とし、遠山らの方法⁹⁾に従って、右第4肋間で開胸し、大動脈起始部、下大静脈、および上大静脈 (奇静脈より末梢側) にそれぞれ血管絞扼用テープを通した。また、右総頸動脈に28ゲージのテフロン針 (八光、東京) を留置し、試験薬 (PGE₁または生理食塩水) の投与路に当てた。

II. 試験薬の投与と群分け

全身状態の安定が得られた時点で、吸入ガスを0.2%ハロセンと酸素のみに変更し、被検動物を、PGE₁群10頭と、対照群10頭の2群に無作為に分けた。PGE₁群には、20mlの生理食塩水に溶解したプロスタグランドン20 (PGE₁濃度=1ng/μl, 小野、大阪) の総頸動脈内注入を開始した。なお、その際の注入速度は10μl/kg/分 (PGE₁として10ng/kg/分) に設定した。対照群には、同様の方法で生理食塩水のみを注入を開始した。両群の動物に対して、上記の総頸動脈内注入を1時間行ったうえ、完全脳虚血操作 (後述) を15分間施行した。この虚血操作中は、総頸動脈内注入を一時中断したが、循環再開後すなわち脳虚血操作終了とともに再び注入を開始し、その後2時間続行した。

III. 完全脳虚血の実施

完全脳虚血は、大動脈鉗子を用いて上行大動脈を起始部よりできる限り遠位の腕頭動脈分岐部直前で遮断し、同時に上および下大静脈を前もって準備しておいたテープで絞扼するという方法を用いた (図1)。なお、遮断中は、呼吸数を5回/分に減じた。遮断開始より14分30秒後に、まず上および下大静脈の絞扼を解除し、次いで正確に15分後に上行大動脈の遮断を解除して、循環を再開させた。遮断を解除した直後は、呼吸数を15回/分にしたが、以後は頻回に動脈血ガス分析を行い、PaCO₂が40mmHgとなるように呼吸数を調節した。また、8.4%重炭酸ナトリウム (大塚) を静脈内投与し、血液の塩基過剰値 (base excess, BE) が-5~-5mEq/lの範囲になるように努めた。

IV. 測定時点および測定項目

基準時 (試験薬液の総頸動脈内注入前)、大動脈遮断5分前、

および循環再開後10分から720分までの間の12の時点で、各種の測定を行った。なお、測定項目は、心拍数 (heart rate, HR), MAP, MPAP, CVP, PCWP, CO, 動脈血酸素分圧 (oxygen pressure of arterial blood, PaO₂), PaCO₂, pH, BE, 血清の電解質濃度 (ナトリウムおよびカリウムイオン), 血糖値, BT, 聴性脳幹反応 (auditory brainstem response, ABR) および脳波 (electroencephalogram, EEG) などである。

HRは、四肢誘導で記録した心電図より計測した。MAP, CVP, MPAPおよびPCWPは、圧トランスデューサーT12AD-R (Spectramed, Oxford, USA) を介して、多用途監視装置RM-6000 (日本光電、東京) に連続的に記録した。COは、0℃の生理食塩水を肺動脈カテーテルに注入し、心拍出量計EH-11 (フクダ電子、東京) により測定した。PaO₂, PaCO₂, pHおよびBEは自動血液ガス分析計ABL-3 (Radiometer, Copenhagen, Denmark) で、血清のナトリウムとカリウムイオン濃度は電解質測定器NK-60P (Joko, 東京) で測定した。また、血糖値の測定は、レフロマート (山之内) で行った。

EEGは、頭頂部および前頭部に針電極を刺入し、双極誘導法で得られたものを、上記の多用途監視装置に記録した。ABRの測定には、廣田らの方法¹⁰⁾に従って、誘発電位検査装置Compact Four (Nicolet, Madison, USA) を使用した。すなわち、動物用に特別に作成したチューブ式音刺激装置を右外耳孔に挿入し、持続時間0.1ミリ秒、音圧80dB、刺激頻度12.1Hzのクリック音を与えた。電位の検出には、針電極を頭頂部、左右

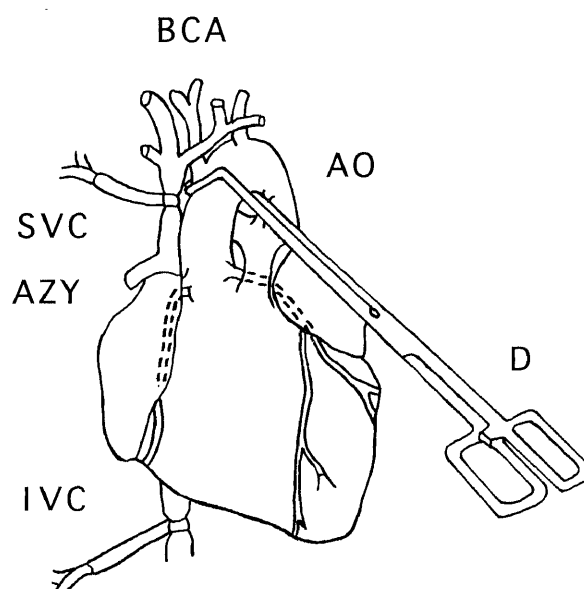


Fig. 1. Method for complete cerebral ischemia. Complete cerebral ischemia was induced by occluding the aorta with Debackey's vascular clamp which was placed just proximal to the brachiocephalic artery. The superior and inferior vena cavae were also occluded with umbilical tapes. AO, ascending aorta; BCA, brachiocephalic artery; SVC, superior vena cava; IVC, inferior vena cava; AZY, azygos vein; D, Debackey's vascular clamp.

pulmonary capillary wedge pressure; PDH, postischemic delayed hypoperfusion; PGE₁, prostaglandin E₁; PL, peak latency

乳様突起部、鼻根部に刺入し、それぞれ関電極、不関電極および接地電極とした。また、分析時間を10ミリ秒、加算回数を1000回、フィルター通過帯域を300～1500Hzに設定した。本測定に際しては、少なくとも2回以上繰り返し、再現性の無い波形は除外した。なお、最大波形の振幅が $0.2\mu\text{V}$ 以下の場合は、

波形が出現していないものとみなした。

ABRの波形は、5～6個の陽性波と陰性波より成るが、一般には、5個の陽性波が測定の対象とされている。今回も5個の陽性波について解析した。すなわち、陽性波を潜時の短い順にI～V波とし、刺激側の各波形の出現率、頂点潜時 (peak

Table 1. Hemodynamics of control and prostaglandin E₁ (PGE₁) groups

Time	Group	No.of dogs used	HR (beat/min)	MAP (mmHg)	MPAP (mmHg)	CVP (mmHg)	PCWP (mmHg)	CO (l/min)
Baseline	Control	10	146.3±19.0	93.8±16.1	19.7± 6.6	7.1±1.4	11.7±3.8	1.84±0.42
	PGE ₁	10	147.0±25.8	99.2± 9.2	17.0± 4.1	7.3±1.9	11.8±2.8	1.64±0.55
1 hr after intracarotid infusion	Control	10	143.3±19.4	117.7±25.4	21.8± 7.8	7.6±1.4	12.1±3.9	2.07±0.44
	PGE ₁	10	149.8±20.3	116.4±16.2	17.7± 3.3	6.5±1.5	10.9±3.1	1.89±0.47
After recirculation 10 min	Control	10	220.9±45.7	155.9±46.0	26.7±11.6	9.7±3.4	17.4±9.7	2.01±0.83
	PGE ₁	10	213.6±31.3	167.0±34.1	26.0± 8.2	9.1±2.8	18.2±7.9	2.16±0.68
30 min	Control	10	207.1±47.5	139.8±24.4	23.6± 8.6	8.7±1.9	14.3±6.0	1.90±0.65
	PGE ₁	10	191.1±16.4	131.9±14.9	23.0± 7.0	7.8±1.7	15.2±5.3	1.82±0.60
60 min	Control	10	185.0±47.1	124.5±21.7	21.6± 8.4	8.1±1.5	14.3±5.8	1.57±0.59
	PGE ₁	10	172.7±16.4	128.4±20.9	22.4± 6.4	7.4±1.9	15.4±7.4	1.41±0.55
120 min	Control	10	159.2±31.0	130.9±20.7	24.9± 8.0	7.7±1.4	18.0±6.0	1.04±0.37
	PGE ₁	10	160.8±12.5	124.6±26.4	22.8± 6.2	6.6±2.0	17.1±6.3	1.14±0.43
360 min	Control	10	173.3±34.7	102.7±17.9	25.2± 8.0	6.5±1.4	17.1±5.0	1.15±0.30
	PGE ₁	10	163.0±22.7	96.7±15.9	24.6± 4.8	6.2±2.0	17.3±4.5	1.17±0.40
720 min	Control	10	176.7±43.6	90.0±24.8	24.4± 9.5	6.4±1.6	15.5±7.2	1.44±0.28
	PGE ₁	10	162.0±32.2	82.7±20.0	20.4± 4.8	5.5±2.7	11.4±4.6	1.23±0.37

Values are $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p < 0.05$ vs. the control group. HR, heart rate; MAP, mean arterial pressure; MPAP, mean pulmonary arterial pressure; CVP, central venous pressure; PCWP, pulmonary capillary wedge pressure; CO, cardiac output.

Table 2. Arterial acid-base status, blood sugar level and blood temperature of control and prostaglandin E₁ (PGE₁) groups

Time	Group	No.of dogs used	pH	PaCO ₂ (mmHg)	BE (mEq/l)	BS (mg/dl)	BT (°C)
Baseline	Control	10	7.38±0.03	38.4±4.6	- 2.4±2.4	164.8±34.8	38.6±0.6
	PGE ₁	10	7.37±0.03	38.8±4.2	- 2.8±1.2	185.0±14.1	39.0±0.4
1 hr after intracarotid infusion	Control	10	7.35±0.03	42.3±2.5	- 2.2±1.1	203.3±24.6	38.9±0.6
	PGE ₁	10	7.36±0.03	41.6±2.9	- 1.7±2.4	232.5±30.5	38.9±0.3
After recirculation 10 min	Control	10	7.22±0.03	39.8±5.4	- 11.4±1.6	283.8±54.0	38.6±0.8
	PGE ₁	10	7.23±0.04	42.0±4.2	- 10.4±1.9	327.5±14.5	38.8±0.3
30 min	Control	10	7.37±0.03	40.4±2.2	- 2.1±1.5	267.5±58.4	38.6±0.7
	PGE ₁	10	7.37±0.03	39.8±2.7	- 2.1±2.0	297.3±39.5	39.0±0.2
60 min	Control	10	7.38±0.02	40.6±2.2	- 0.9±1.1	244.8±43.9	38.8±0.5
	PGE ₁	10	7.40±0.01	39.5±2.2	- 0.6±1.4	303.3±52.5	39.1±0.2
120 min	Control	10	7.39±0.04	38.6±3.2	- 1.1±1.9	217.0±25.6	38.9±0.4
	PGE ₁	10	7.41±0.05	37.9±3.9	- 0.5±1.8	226.7±12.5	38.9±0.2
360 min	Control	10	7.39±0.03	39.6±1.1	- 0.7±2.0	165.3±32.8	38.7±0.4
	PGE ₁	10	7.38±0.04	39.4±2.3	- 1.6±1.9	200.0±25.5	38.8±0.6
720 min	Control	10	7.38±0.03	40.2±1.0	- 1.4±2.4	170.5±21.9	38.8±0.5
	PGE ₁	10	7.38±0.03	38.7±1.4	- 1.9±1.8	161.7± 4.7	39.1±0.4

Values are $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p < 0.05$ vs. the control group. PaCO₂, carbon dioxide pressure of arterial blood; BE, base excess; BS, blood sugar level; BT, blood temperature.

latency, PL) および振幅を測定した。PLは、クリック音による電気刺激の開始から各波形の頂点までとし、振幅は陽性波形の頂点と陰性波形の頂点の間の電位差とした。なお、循環再開後のABR波形が出現しない場合、PLは欠損値として統計処理から除外し、振幅は0 μ Vとして取り扱った。

V. 統計処理

測定値はすべて平均値 \pm 標準偏差で表した。ABRの波形の出現率は、Fisherの直接確率計算法を用いて検定した。その他の

Table 3. Flattening and reappearing times of EEG during and after 15-min complete cerebral ischemia

Group	No. of dogs used	Flattening time (sec)	Reappearing time (min)
Control	10	23.2 \pm 8.5	82.5 \pm 36.1
PGE ₁	10	23.0 \pm 7.9	41.5 \pm 11.2*

Values are $\bar{x} \pm SD$. * $p < 0.05$ vs. the control group. EEG, electroencephalogram; flattening time, period from the onset of complete cerebral ischemia to disappearance of EEG; reappearing time, period from the start of recirculation to reappearance of burst EEG; PGE₁, prostaglandin E₁.

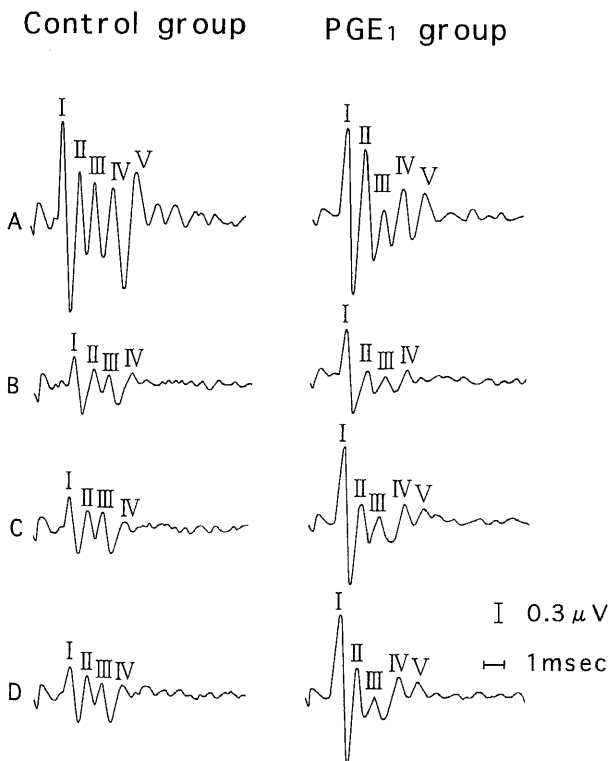


Fig. 2. Typical auditory brainstem responses (ABR) recorded before and after 15-min complete cerebral ischemia. Stimuli were monaural click sounds of 0.1 msec presented at a rate of 12.1 Hz and at an intensity level of 80 dB. (A) Baseline recording (before prostaglandin E₁ or saline infusion). The configuration consists of five positive waves (I, II, III, IV and V). (B) 10 min after recirculation following 15-min complete cerebral ischemia. (C) 30 min after recirculation. (D) 60 min after recirculation.

項目の有意差検定は、2元分散分析を行ったうえで、群間比較には対応のないStudentのt検定を用いた。いずれも危険率(p)が、0.05以下の場合を有意差ありとした。

成 績

I. 循環動態の変化

表1に完全脳虚血前後の循環動態の変化を示す。MAPは、大動脈遮断と同時に急降し、15分間の完全脳虚血中、ほぼ20mmHg前後に固定した。循環再開直後、MAPは急激に上昇し、一過性に160mmHg前後の高血圧状態になった。なお、いずれの測定時点においても、両群間に有意差は認められなかった。同様に、HR, MPAP, CVP, PCWP, COも、全経過を通じて両群間に有意差は認められなかった。

II. 血液ガス、電解質、血糖値、および血液温の変化

表2に完全脳虚血前後の血液ガス、血糖値、血液温の変化を示す。循環再開10分後、両群ともBEが -10mEq/l 以下の代謝性アシドーシスを示した。しかし、直ちに重炭酸ナトリウムを投与することにより、30分目以降にはBEの平均値を ± 2.1 以内に維持することが出来た。pH, BEおよびPaCO₂には、全経過を通じて両群間に有意差が認められなかった。PaO₂も全経過を通じ両群間に有意差はなく、いずれの時点でも200mmHg以上を示しており、低酸素血症は認められなかった。血糖値お

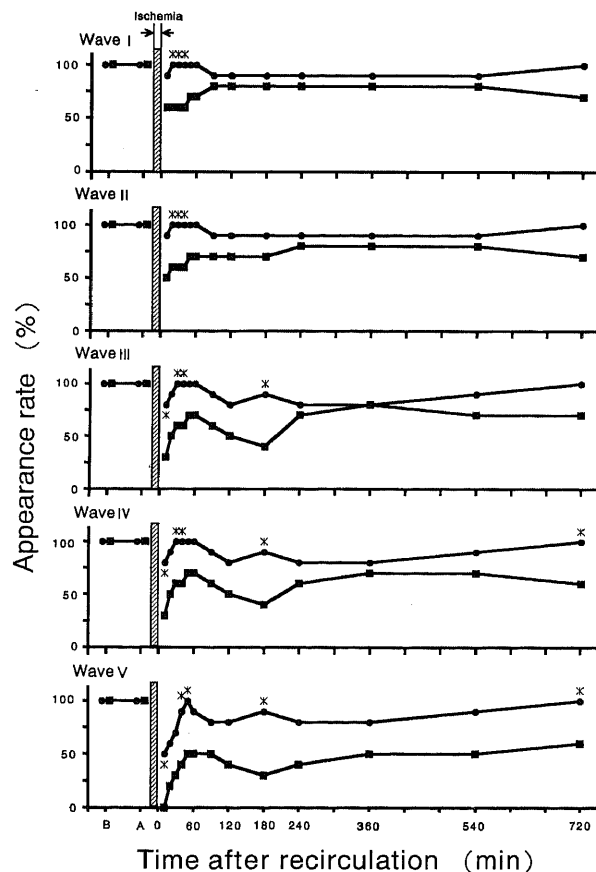


Fig. 3. Appearance rate of each wave in auditory brainstem response (ABR). B, baseline; A, 1 hr after prostaglandin E₁ (PGE₁) or saline infusion. ●, PGE₁ group; ■, control group. * $p < 0.05$ vs. the control group.

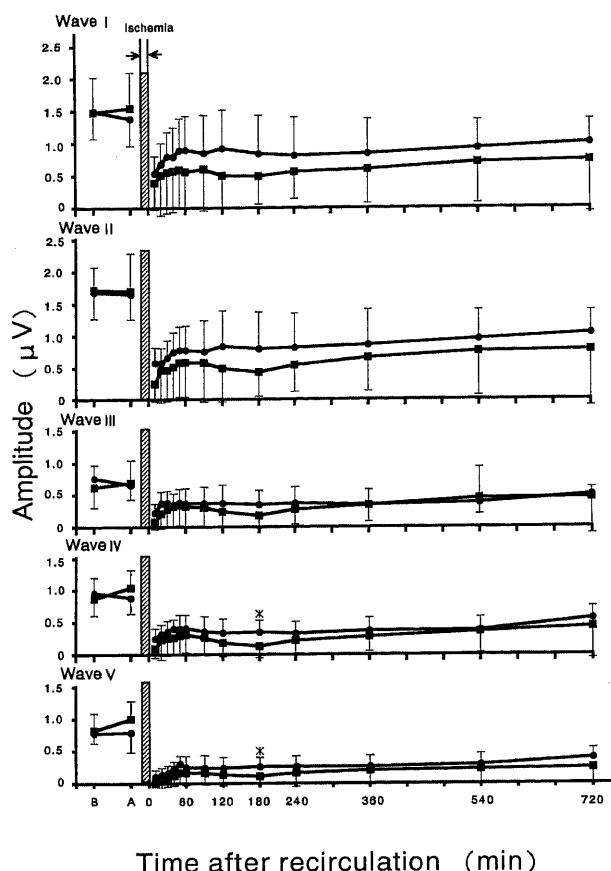


Fig. 4. Amplitude of each wave in auditory brainstem response (ABR). B, baseline; A, 1 hr after prostaglandin E_1 (PGE_1) or saline infusion. ●, PGE_1 group; ■, control group. * $p < 0.05$ vs. the control group.

よび血清ナトリウムやカリウムイオン濃度にも、全経過を通じて両群間に有意差が認められなかった。血液温も両群間に有意差が認められなかった。

Ⅲ. 脳波

脳波が消失するまでの時間と再出現するまでの時間を表3に示す。脳波は、両群とも虚血開始より数秒で徐波化し、棘波が出現した後に消失した。大動脈遮断後、脳波が平坦化するまでの時間は、対照群および PGE_1 群ともに23秒前後で、両群間に有意差を認めなかった。しかし、循環再開後、脳波が再出現するまでの時間は、対照群で82.5分であったのに対し、 PGE_1 群では有意に短く約半分の41.5分であった。

Ⅳ. ABR

両群ともに、大動脈を遮断してから2分以内にABRは平坦化した。ABRの回復は、いずれの被験動物でもⅠ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ波の順序で回復し、Ⅴ波の再出現が最も遅かった。完全脳虚血前後における対照群および PGE_1 群の代表的なABR波形を図2に示し、各波の出現率を図3に示す。Ⅰ波およびⅡ波の出現率は、循環再開後20～40分の時点で PGE_1 群が対照群よりも有意に高値を示した。Ⅲ～Ⅴ波についても、全経過を通じ、 PGE_1 群における出現率が対照群よりも高く、とくに循環再開後10分と40分目前後、および180分目に両群間で有意差の認められたことが特徴的な所見であった。

完全脳虚血前後におけるABR各波の振幅を図4に示す。振幅

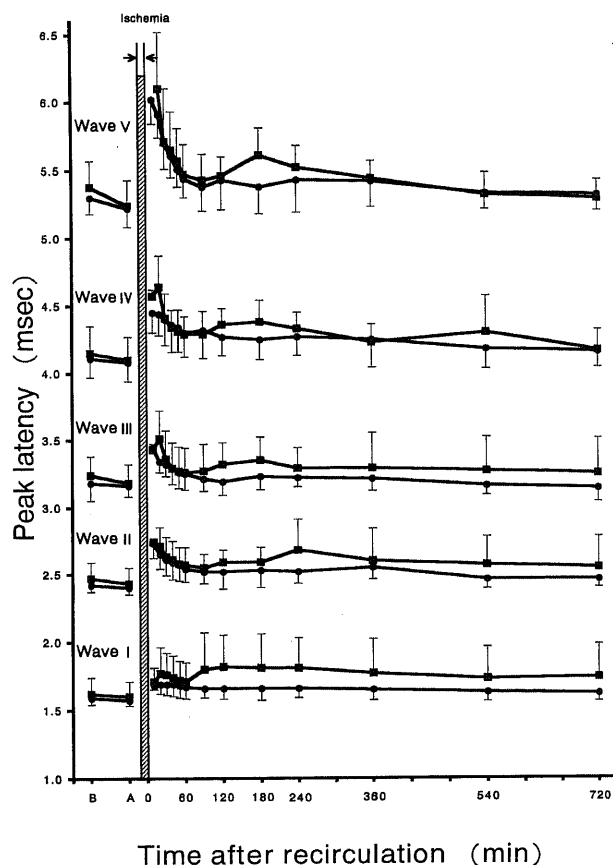


Fig. 5. Peak latency of each wave in auditory brainstem response (ABR). B, baseline; A, 1 hr after prostaglandin E_1 (PGE_1) or saline infusion. ●, PGE_1 group; ■, control group. * $p < 0.05$ vs. the control group.

の経時的変化は、両群とも、ⅠからⅤ波まで、ほぼ同様の経過をとった。すなわち、循環再開後は、時間とともに回復する傾向を示した。しかし、対照群では、60分後から240分後までの間に一過性の再低下が認められた。一方、 PGE_1 群では、この時点での振幅の再低下が認められなかった。循環再開後の全観察期間を通じ、 PGE_1 群におけるABR各波の振幅は、対照群に比べ大きかった。特に、循環再開後180分の時点で、 PGE_1 群のⅣ波とⅤ波の振幅は、対照群のものよりも有意に大きかった。

完全脳虚血前後におけるABR各波のPLを図5に示す。全てのPLは、いずれの時点でも両群間で有意差を認めなかった。

考 察

急性心停止後のような完全な脳虚血後の脳障害の転帰を動物モデルで検討する場合には、全脳が確実に虚血されていることと、虚血時間が正確に規定できることが重要である。今回用いた上行大動脈遮断法は、手術侵襲が少なく、側副血行路の多いイヌにおいても全脳の血流を確実に遮断し、さらに虚血時間を正確に規定できる点で有用である¹¹⁾。虚血時間は、障害程度を大きく左右し、転帰を検討する研究では重大な影響を持っている¹²⁾。イヌの場合、10分以内の脳虚血では、明確な脳障害の起こらないことがある¹³⁾。一方、18分間以上の完全脳虚血では、確実に脳死に至り、種々の治療法を検討するモデルには適さな

くなる¹⁴⁾。以上の理由から、本研究では、完全脳虚血の時間として15分間を採用し、脳機能の回復に及ぼすPGE₁の効果を検討した。

心停止から蘇生した脳の回復は、全身的な条件にも大きく左右される⁹⁾。PGE₁は、心拍出量や体血管抵抗を変化させる可能性がある。しかし、今回の実験では、頸動脈内に注入するという方法を用い、対照群とPGE₁群の間で、全身的な差が生じないように配慮した。その結果、実験の全経過を通じ、体循環や肺循環の各指標、動脈血のガス分圧や酸塩基平衡、血糖値、および体温などに、両群間の差は見られなかった。したがって、今回の実験結果を解析するにあたっては、上記の諸因子を除外して良いものと考えられる。

脳の障害や回復の程度を判定するには、脳波やABRなどの誘発電位、神経学的な諸徴候、脳の循環および代謝の動向、放射線学的あるいは病理組織学的な形態の変化などが用いられている。しかし、急性心停止の臨床では、種々の制約から、上記の全ての検査を行うことは困難であり、特に組織学的観察は不可能である。今回の実験は、動物を用いたものであるが、臨床的応用を念頭に置き、侵襲が少ないこと、循環再開後の早期から経時的に観察できること、および客観性や再現性が高いことなどから、脳波およびABRによる解析を主体にした。

以上の検討を踏まえたうえで、今回の結果をみると、まず循環再開後の脳波再出現時間が、対照群に比較してPGE₁群では短縮していたことに注目される。脳波は脳の皮質の活動を反映し、脳機能の予後を判定する上で重要な意味を持っている。すなわち、心停止から蘇生した患者では、脳波が60分以内に回復するときは脳機能障害を残すことが少ないが、それ以後の場合は、出現時間に比例して、知能低下や運動および感覚障害が増強すると報告されている¹⁵⁾。ヒトとイヌを同列にして論ずることに注意が必要であろう。しかし、障害が生ずるか否かの境界値の指標として、60分を採用するならば、対照群の脳波の再出現時間は境界値を越えており(82.5分)、PGE₁群の再出現時間は境界値以内(41.5分)であった。したがって、完全脳虚血の脳に対して、PGE₁が保護的に作用したことは確実であろう。

さらに、PGE₁群における循環再開後のABRの波形出現率は対照群より明らかに良好であり、振幅もⅣとⅤ波では両群間に有意差が認められた。ABRは、脳幹から中脳にいたるまでの聴覚中継核路の機能を反映する。すなわち、ABRのⅠ波は蝸牛神経末端、Ⅱ波は蝸牛神経核、Ⅲ波はオリブ核、Ⅳ波は外側毛帯、Ⅴ波は下丘の活動に基づくことが知られており、その振幅は上記の各部位における神経細胞の放電頻度を反映すると推定されている¹⁶⁾¹⁷⁾。なお、ABRは、麻酔や意識状態による影響を受けにくく、聴覚中枢核の近辺に存在する循環中枢や呼吸中枢の活動とも平行することから、脳死判定の補助診断に用いられている¹⁸⁾¹⁹⁾。また、廣田²⁰⁾や浅地²¹⁾は、完全脳虚血後のイヌにおけるABRと、反射や行動様式などの回復度の間に高い相関関係があると報告している。波形の出現率や振幅の回復所見と上記の考察から、PGE₁の投与は、虚血後の脳幹部、特にⅣ～Ⅴ波に対応する上位の脳幹部の機能回復に有効であると結論できる。

虚血によって脳細胞が死に至る経過は複雑で、その全容が十分に解明されているとは言い難い。しかし、その機序の一つとして、酸素欠乏に基づく酸化的リン酸化の障害が関与している

ことは確実視されている。すなわち、ミトコンドリア内での酸化的リン酸化の障害により、ATPが枯渇する結果、ナトリウムイオンと水が細胞内に貯留して細胞は腫脹する²²⁾。また、電位依存性カルシウムチャンネルからはカルシウムイオンが細胞内に流入する²³⁾。細胞内におけるナトリウムやカルシウムイオンの増加は、グルタミン酸などの興奮性アミノ酸の細胞外への放出やホスホリパーゼの活性化を引き起こす²⁴⁾²⁵⁾。これらを放置すれば、細胞内へカルシウムがさらに流入するという悪循環を形成するに至り²⁶⁾、蛋白質の合成障害や細胞膜の破壊から細胞死へと発展するであろう^{27)~29)}。PGE₁は、細胞膜のNa⁺ポンプであるNa⁺、K⁺ATPaseを賦活することが知られている⁷⁾。また、ホスホリパーゼの活性化を抑制することも知られている⁸⁾。したがって、虚血後の脳機能の回復がPGE₁群で良好であったという今回の実験の結果は、PGE₁によって上記の悪循環の進行が抑制されたことを示すものと考えられる。

一方、今回の実験では、循環再開後に出現したABR各波のPLに関して、対照群とPGE₁群の差は見られず、さらに基準値の所見と比較しても差は見られなかった。PLは、下牛神経末端から下丘に至る神経繊維の伝導速度を反映し、浮腫による圧迫や血行障害で延長することが知られている³⁰⁾。しかし、この延長は、外傷や梗塞などの局所的脳障害の際に認められたものである。したがって、今回の実験の結果は、PLに関して、完全な全脳虚血の場合と局所的な脳障害の場合とを同一にして論じられないことを示すものと思われる。

今回の実験の対照群では、循環再開後180分目を中心にして、ABRの各波(とくにⅢ、Ⅳ、Ⅴ波)の出現率や振幅が、一過性に低下した。この変化についても、若干の考察が必要であろう。脳虚血後1時間から6時間目に脳血流の減少することが多く、この現象は遅発性脳血流減少(postischemic delayed hypoperfusion, PDH)と呼ばれている³¹⁾³²⁾。時間的な関係から考えて、対照群でのABRに関する上記の変化は、PDHに基づく可能性が大きい。一方、PGE₁群でのこの時期におけるABRの波形には、出現率の低下や振幅の減少が認められなかった。すなわち、PDHの発生も、PGE₁の投与によって抑制できると言い得る所見が認められたことになる。

PDHの発生機序は明確でないが、脳組織の局所性浮腫、血管周囲グリアの腫脹、血液粘稠度の上昇、凝固機能の亢進、血小板および赤血球の凝集、脳血管の異常収縮などが関与していると考えられている³³⁾。PGE₁には、平滑筋に作用して、血管を拡張させる作用がある³⁾。さらに、PGE₁は、ホスホリパーゼA₂の活性化を抑制し、トロンボキサンA₂を介する血小板の凝集を防止することも知られている⁴⁾。しかし、今回の実験では、循環再開後120分目でPGE₁の投与を打ち切っている。また、生体に投与されたPGE₁は、5分以内に大半が分解される³⁴⁾³⁵⁾。したがって、今回の実験で見られたPDHに関する両群の差違を、血管拡張や血小板凝集の強弱で説明することは困難であろう。PDHがPGE₁群で抑制されたのは、前項で述べた機序、すなわちナトリウムの細胞内貯留をPGE₁が防いだため、グリア細胞の腫脹の度合いが小さく、血管が周囲から圧迫されなかった結果であろうと推察される。

今回の実験では、臨床で一般的に使用されるPGE₁の量(0.1ng/kg/分前後)の約100倍量(10ng/kg/分)を投与した。イヌでのPGE₁の代謝速度はヒトの5～10倍であると言われているが³⁶⁾、投与量が適当なものであったか否かについては、今後

の検討が必要であろう。さらに、PGE₁の投与時期についても問題が残されている。今回の実験では、虚血中に脳細胞のエネルギーの減少(ATPの減少)をPGE₁が阻止する可能性を考慮し、虚血開始の1時間前よりPGE₁を投与した。実験結果としては、対照群とPGE₁群の脳波消失時間がほぼ同じであったことから、PGE₁を虚血前に投与しても虚血中のエネルギーの消失速度は変化しないであろうと考えられた。一方、臨床の場合は、急性心停止を予想して事前にPGE₁を投与するという考えは一般的でない。したがって、全脳虚血後のみにPGE₁を投与をしても、今回と同様の結果が得られるのではないかと予想される。しかし、この問題も、今後の実験で確認する必要がある。

以上の結果と考察より、完全脳虚血前から後にわたりPGE₁を総頸動脈内に投与すると、酸素欠乏によって生ずる一次的な脳細胞の障害のみならず、PDHによる二次的な障害も軽減できると結論された。しかし、この方法を臨床で応用するには、PGE₁の至適投与量と、虚血後に投与を開始した場合の効果を確認することが必要であると考えられた。

結 論

イヌに15分間の完全脳虚血を施行し、虚血前から循環再開後にわたりPGE₁を総頸動脈内に投与して、神経機能の回復に及ぼす影響を脳波およびABRにより検討し、以下の結果を得た。

1. PGE₁の投与により、循環再開後の脳波再出現時間は有意に短縮した。
2. PGE₁の投与により、循環再開後のABR各波の出現率は有意に高められた。
3. PGE₁の投与により、循環再開後のABR各波の振幅は有意に増大した。また、振幅の再低下が起こらず、PDHの発生が防止された。

以上の結果より、完全脳虚血前から循環再開後にわたりPGE₁を総頸動脈内に投与すると、虚血後の脳機能の回復が促進すると結論された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師小林 勉教授に、深甚の謝意を表します。また、適切なるご助言を賜った村上誠一名誉教授、終始実験に御協力を戴いた高岡市民病院麻酔科遠山一喜部長、更生連高岡病院麻酔科吉田 豊部長、金沢大学学集中治療部廣田幸次郎助手、金沢大学附属病院麻酔科蘇生科柳田康彦助手をはじめ脳蘇生実験グループならびに教室員一同に心から感謝いたします。

文 献

- 1) Katz RL, Katz GJ. Prostaglandins: Basic and clinical considerations. *Anesthesiology* 40: 471-493, 1974
- 2) 後藤文夫, 藤田達士. プロスタグランジンと循環. 循環制御 1: 139-146, 1980
- 3) Bergstrom S, Duner H, Euler US, Pernow B, Sjövall J. Observations on the effects of infusion of prostaglandin E in man. *Acta Physiol Scand* 45: 145-151, 1959
- 4) 前川 正. プロスタグランジンと血小板. 代謝 12: 1649-1656, 1975
- 5) 瀬尾留美, 蔵岡麻由里, 杉岡真紀子, 脇谷之清, 山本保信, 吉良平三, 桶川忠夫, 川崎晃義, 笈田浩次, 四宮啓祐, 藤谷武一. 赤血

球変形能に及ぼすOP-1206・ α -CDの影響. 現代医療 20: 1374-1380, 1988

- 6) Raflo GT, Wangenstein SL, Glenn TM, Lefer AM. Mechanism of the protective effects of prostaglandins E₁ and F₂ in canine endotoxin shock. *Eur J Pharmacol* 24: 86-95, 1973
- 7) Sweat FW, Yamashita L, Jubitz W. Dissociation of E prostaglandin effects on liver glycogenolysis and cyclic AMP levels. *Mol Cell Endocrinol* 32: 131-142, 1983
- 8) Ferguson WW, Edmonds AW, Starling JR, Wangenstein SL. Protective effect of prostaglandin E₁(PGE₁) on lysosomal enzyme release in serotonin-induced gastric ulceration. *Ann Surg* 177: 648-654, 1973
- 9) 遠山一喜, 吉田 豊, 廣田幸次郎, 小林宏充, 山本 健, 小林勉, 村上誠一. 上行大動脈遮断による全脳虚血犬モデルの検討. 麻酔 37: 1341-1345, 1988
- 10) 廣田幸次郎, 吉田 豊, 浅地 直, 遠山一喜, 山本 健, 小林勉, 村上誠一. 15分間全脳虚血における軽度低体温の脳保護効果: 聴性脳幹反応による検討. 蘇生 9: 51-52, 1991
- 11) Zimmerman JM, Spencer FC. The influence of hypothermia on cerebral injury resulting from circulatory occlusion. *Surg Forum* 10: 216-218, 1959
- 12) 近藤正得. イヌの脳虚血時間と神経学的予後に関する実験的研究. 麻酔 40: 1228-1241, 1991
- 13) Brockman SK, Jude JR. The tolerance of the dog brain to total arrest of circulation. *Bull Johns Hopkins Hosp* 103: 74-80, 1960
- 14) 塚原 勲. イヌにおける全脳虚血限界時間および虚血後神経機能の回復過程. 麻酔 36: 1737-1746, 1987
- 15) Maise K, Caronna JJ. Coma after cardiac arrest: Clinical features, prognosis, and management. In AH Ropper, SF Kennedy (eds), *Neurological and Neurosurgical Intensive Care*, 2nd ed, p233-245, Aspen Publishers. Rockville, Maryland, 1988
- 16) Moller AR, Jannetta PJ. Neural generators of the auditory brainstem response. In JT Jacobson (eds), *The Auditory Brainstem Response*, 1st ed, p13-31, College-Hill Press. San Diego, California, 1985
- 17) 船井洋光. ABRの起源と局在診断の可能性. *JOHNS* 5: 298-304, 1989
- 18) Starr A. Auditory brain-stem responses in brain death. *Brain* 99: 543-554, 1976
- 19) 塩貝敏之. 脳死判定における各種電気生理学的検査法の検討: 神経モニタリング: I. 聴性脳幹誘発電位. 脳神経 41: 73-83, 1989
- 20) 廣田幸次郎. 軽度低体温の15分間全脳虚血イヌに対する脳保護効果: 聴性脳幹反応および脳波による検討. 十全医会誌 101: 34-45, 1992
- 21) 浅地 直. 15分間全脳虚血犬の神経学的予後ならびに生存率に及ぼす体温の影響. 十全医会誌 98: 1087-1100, 1989
- 22) Heuser D, Guggenberger H. Ionic changes in brain ischemia and alterations produced by drugs. *Br J Anaesth* 57: 23-33, 1985
- 23) Dippolo R. Ca pump driven by ATP in squid axons. *Nature* 274: 390-392, 1978
- 24) Wieloch T, Siesjö BK. Ischemic brain injury: The

importance of calcium, lipolytic activities, and free fatty acids. *Pathol Biol* 30: 269-277, 1982

25) Yoshida S, Ikeda M, Busto R, Santiso M, Martinez E, Ginsberg MD. Cerebral phosphoinositide, triacylglycerol, and energy metabolism in reversible ischemia: Origin and fate of free fatty acids. *J Neurochem* 47: 744-757, 1986

26) Siesjö BK. Cell damage in the brain: A speculative synthesis. *J Cereb Blood Flow Metab* 1: 155-185, 1981

27) Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1: 623-634, 1988

28) Lynch RE, Fridovich I. Autoinactivation of xanthine oxidase: The role of superoxide radical and hydrogen peroxide. *Biochim Biophys Acta* 571: 195-200, 1979

29) Tsubokawa H, Oguro K, Robinson HPC, Masuzawa T, Kirino T, Kawai N. Abnormal Ca²⁺ homeostasis before cell death revealed by whole cell recording of ischemic CA1 hippocampal neurons. *Neuroscience* 49: 807-817, 1992

30) 滝口 峻, 明海国賢, 塩手章弘, 大庭 治, 池田俊行, 古本福

市, 加我君孝. 聴性脳幹反応の単純超低体温麻酔下開心術における変化. *日耳鼻* 82: 1403-1407, 1979

31) Hossmann KA, Lechtape-Gruter H, Hossmann V. The role of cerebral blood flow for the recovery of the brain after prolonged ischemia. *Z Neurol* 204: 281-299, 1973

32) Ginsberg MD, Budd WW, Welsh FA. Diffuse cerebral ischemia in the cat: I. Local blood flow during severe ischemia and recirculation. *Ann Neurol* 3: 482-492, 1978

33) Hossmann KA. Treatment of experimental cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2: 275-297, 1982

34) Golub M, Zia P, Matuno M, Horton R. Metabolism of prostaglandins A₁ and E₁ in man. *J Clin Invest* 56: 1404-1410, 1975

35) Piper PJ, Vane JR, Wyllie JH. Inactivation of prostaglandins by the lungs. *Nature* 225: 600-604, 1970

36) Nakano J, Prancan AV, Morsy NH. Metabolism of prostaglandin E₁ in stomach, jejunum chyle and plasma of the dog and the rat. *Jpn J Pharmacol* 23: 355-361, 1973

Effect of Prostaglandin E₁ on the Recovery of Electroencephalogram and Auditory Brainstem Response after Complete Cerebral Ischemia in Dogs Yasuhiro Myojo, Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 - J. J. J. Med Soc., **106**, 606 - 613 (1997)

Key words complete cerebral ischemia, prostaglandin E₁, electroencephalogram, auditory brainstem response

Abstract

The present study was designed to examine the effect of intracarotid infusion of prostaglandin E₁ (PGE₁) on the recovery of electroencephalogram (EEG) and auditory brainstem response (ABR) in dogs with 15 min of complete cerebral ischemia. A total of 20 mongrel dogs were anaesthetized with a mixture of 1% halothane and 60% nitrous oxide, and their thoraxes were opened to prepare the clamping of the aorta. Thereafter, the anaesthesia was changed to 0.2% halothane and oxygen only. Following measurements of the baseline values, the animals were randomly divided into control and PGE₁ groups. In the control group (n=10), normal saline was infused into the carotid artery at a rate of 10 μ l \cdot kg⁻¹ \cdot min⁻¹. In the latter group (n=10), a solution of PGE₁ (1 ng \cdot μ l⁻¹) was infused at the same rate as the control group. The infusion was continued for 1 hour, and then 15 min of complete cerebral ischemia was brought about by clamping the aorta and vena cava. After this, the infusion into the carotid artery was again performed for 2 hours. The periods from the onset of the ischemia to the disappearance of EEG were not significantly different between the PGE₁ group (23.0 \pm 7.9 sec, mean \pm SD) and the control group (23.2 \pm 8.5 sec). On the other hand, the reappearance of EEG after recirculation was significantly earlier in the PGE₁ group (41.5 \pm 11.2 min) than the control group (82.5 \pm 36.1 min) (p<0.05). In PGE₁ group, the reappearance rate of all the ABR waves, i. e. the waves of I ~ V were higher than that of the control group (p<0.05). The amplitude of ABR waves III and V were also larger than the control group (p<0.05). In addition, occurrence of postischemic delayed hypoperfusion was prevented in the PGE₁ group. It was concluded from these results that intracarotid infusion of PGE₁ improves the recovery of brain function after complete cerebral ischemia. It was thought that the mechanisms might relate to activation of ATPase by PGE₁ and blocking of sodium and calcium ions influx into the brain cells. For application of this method to clinical cases, however, further studies are needed on the dose and timing of PGE₁ infusion.